昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, April 2012, 55(4): 386 – 394　　ISSN 0454-6296

20-羟基蜕皮甾酮处理后舞毒蛾外部形态和幼虫体壁超微结构的变化

于　杰，迟德富*，李晓灿，宇　佳
（东北林业大学生命科学学院，哈尔滨 150040）

摘要：为了探明20-羟基蜕皮甾酮对昆虫蜕皮过程中体壁的表皮层、皮细胞及其细胞器的具体影响过程，本研究利用透射电镜技术研究了20-羟基蜕皮甾酮对舞毒蛾 *Lymantria dispar*（Linnaeus）5龄幼虫体壁超微结构的变化。结果表明，用高浓度20-羟基蜕皮甾酮溶液浸过的白桦叶片饲喂幼虫，处理6 h，摄入约400 μg 20-羟基蜕皮甾酮后，幼虫停止取食；处理12 h时表皮细胞顶膜上的微绒毛减少，在皮细胞与旧表皮之间形成蜕皮间隙，旧头壳从幼虫头部脱离；处理24 h时蜕皮间隙继续增大，旧表皮与皮细胞进一步分离，新表皮质层开始形成；处理36 h时皮细胞顶膜形成较短的微绒毛，胞质区域出现数量较多的电子疏松泡，新表皮由上表皮、外表皮及8层左右内表皮片层组成；处理48 h时顶膜与内表皮界限模糊，内表皮继续合成至16层左右；72 h时细胞内出现大面积电子疏松泡，内表皮合成至20层左右。处理96 h时，与对照组相比，皮细胞细胞器较少，核仁周围出现小部分空白区域，胞质区域内含物减少；虫体发黑缩小，即将死亡；内表皮层数仍旧保持20层左右。对照组幼虫6 – 96 h虫体活跃，正常取食，外部观察及透射电镜结果均未显现蜕皮现象；表皮层由上表皮、外表皮及内表皮组成；皮细胞顶膜微绒毛密度高；表皮细胞分泌活动旺盛，胞质区域细胞界限明显，内含物丰富；细胞器典型而且活跃；内表皮片层随时间不断增加至50层左右。结果提示，外源20-羟基蜕皮甾酮能够导致舞毒蛾5龄幼虫的致死性蜕皮。

关键词：舞毒蛾；20-羟基蜕皮甾酮；外部形态；体壁；超微结构；透射电镜
中图分类号：Q964　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2012)04-0386-09

Changes in external morphology and integument ultrastructure of the 5th instar larvae of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantridae) treated by 20-hydroxyecdysone

YU Jie, CHI De-Fu*, LI Xiao-Can, YU Jia (College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: To ascertain the definite influence process of 20-hydroxyecdysone (20E) on cuticle, epidermic cells and cell organelle of integument in the molting process, transmission electron microscope was used to determine the influence of 20E on the integument ultrastructure of newly moulted 5th instar larvae of *Lymantria dispar* (Linnaeus). The results showed that larvae fed with white birch leaves soaked in high concentration of 20E ingested about 400 μg 20E when they stopped feeding within 6 h after treatment. At around 12 h post treatment, the microvilli on apical plasma membrane of epidermal cells reduced, and the ecdysial space started to form between the old cuticle and epidermal cells. The old head capsule started to break away from the larval head. At 24 h post treatment, the ecdysial space increased continually. The old cuticle separated further with epidermal cells and new cuticulin layer began to form. At around 36 h after treatment, short microvilli were formed at the apical plasma membrane, and a lot of electron lucent vesicles appeared at the cytoplasmic region. Epicuticle, exocuticle and about 8 layers of endocuticular lamellae were synthesized in the new cuticle. At 48 h after treatment, the bounds between apical plasma membrane and epidermal cells became obscure. Endocuticular lamellae were continuously synthesized to 16 layers. At 72 h post treatment, a large number of electron lucent vesicles appeared in the epidermal cells, and endocuticular lamellae were synthesized to about 20 layers. At 96 h after treatment, there were fewer organelles in epidermal cells of the treatment groups than in the control group. A small percentage of blank space occurred around nucleolus, and the contents in cytoplasm were

基金项目：林业公益性行业科研专项(200904029)；林业公益性行业科研专项(201004003-7)
作者简介：于杰，女，1986年生，硕士研究生，主要从事昆虫化学生态学研究，E-mail：yujiery@163.com
*通讯作者 Corresponding author, E-mail：chidefu@126.com
收稿日期 Received：2011-12-09；接受日期 Accepted：2012-03-28

reduced. The bodies of treated insects became nigrescence and shrinking, and they were close to death. The number of endocuticular lamellae maintained to be about 20 layers. In the control groups, however, at 6 – 96 h after treatment the larvae were active and fed normally, and no molting phenomenon was observed by external observation and transmission electron microscope experiments in these larvae. The cuticle of the larvae was composed of epicuticle, exocuticles and normal layers of endocuticular lamellae. The microvilli density was high. Those organelles were typical and active. The cell boundaries were visible in the cytoplasm area, where the inclusions are rich. The secretion activity of epidermal cell was vigorous, and the endocuticular lamellae increased continuously to 50 layers with increase of the treatment time. It is so inferred that 20E could lead to lethal moulting of 5th instar larvae of *L. dispar*.

Key words: *Lymantria dispar*; 20-hydroxyecdysone; external morphology; integument; ultrastructure; transmission electron microscopy

随着有机化学合成农药对人及环境的危害受到广泛的认同，植物源新型农药的开发引起了学者的极大兴趣。其中，植物次生代谢产物成为植物源新型农药的重要潜在来源。植物源蜕皮甾酮是许多植物的次级代谢产物，它是可以调节昆虫生长、发育、繁殖等生理活动的一类化合物。有研究认为植物源蜕皮甾酮是植物防御食叶昆虫的有力武器（Lafont, 1997；Adler and Grebenok, 1999），这些物质对于脊椎动物几乎无害（Slúma and Lafont, 1995），所以很多学者普遍认为这类化合物在农林业害虫防治中具有较大的潜在价值。

蜕皮激素在昆虫的生长、发育和繁殖过程中起着严格的调控作用，其调控幼虫蜕皮的分子机制已经基本研究清楚，蜕皮激素作用靶标由蜕皮激素受体（ecdysteroid receptor, EcR）和超气门蛋白（ultraspiracle protein, USP）组成。蜕皮激素可与EcR/USP 作用启动蜕皮的一系列级联反应，包括蜕皮激素-EcR-USP 三聚体促进蜕壳启动激素（ecdysis-triggering hormone, ETH）的合成，并限制ETH 的分泌。当血淋巴中蜕皮激素滴度下降后，羽化激素（eclosion hormone, EH）得到释放，EH 释放后促进 ETH 的分泌，最终启动昆虫蜕皮（许可等，2001；郭恩恩等，2008）；同时配体-受体复合物蜕皮激素-EcR-USP 与共激活子结合，启动初级应答基因的表达，然后初级应答基因触发蜕皮激素次级应答基因的表达，最终调控昆虫变态和蜕皮过程（李康等，2011）。近年来由于昆虫蜕皮激素-EcR-USP 复合体的转录调控在昆虫蜕皮时期的重要作用以及昆虫 EcR 高度的反应灵敏性，蜕皮激素类似物等生长调节剂类杀虫剂得到广泛的推广（刘永杰等，2007）。

20-羟基蜕皮甾酮（20-hydroxyecdysone, 20E）是植物源蜕皮甾酮中的一种，其结构与昆虫或其他节肢动物分泌的 β-蜕皮激素结构相同。在我国主要用于养蚕业，它可以使得蚕老熟齐一，加快吐丝营茧速度。近年来也广泛应用于药理保健和食品添加剂等方面。然而，一些研究表明，一定剂量的 20E 能够对某些昆虫产生毒性效果，如拒食、抑制生长发育乃至致死等（Camps and Coll, 1993；Xu *et al.*, 2011）；一定剂量的 20E 等外源植物蜕皮甾类处理也可以使家蚕等一些种类的昆虫出现多余的虫龄、未蜕皮死亡、蜕皮时或蜕皮后死亡等现象（Tanaka and Takeda, 1993）。

昆虫的体壁以其特殊的结构、化学组成和功能，使其成为昆虫毒理和昆虫病理研究的重要靶标之一。近年来植物源蜕皮甾酮、非甾醇酰基肼类等新一代杀虫剂被广泛开发利用。这些化合物分别具有类似于蜕皮激素或蜕皮激素拮抗剂的作用，能够干扰昆虫的表皮形成和昆虫蜕皮过程，一些学者研究了部分化合物对昆虫体壁的影响。如灭幼脲（dimilin）处理烟草天蛾 *Manduca sexta* 4 龄幼虫，5 龄幼虫新表皮形成后，内表皮片层消失且呈颗粒状，细胞质从皮细胞顶膜喷出（Hassan and Charnley, 1987）；利用噻嗪酮（huprofezin）处理温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum*（Westwood）3 龄幼虫后，利用电子显微镜观察发现处理对蜕皮前的超微结构没有影响，但是干扰了新内表皮片层的形成，新内表皮成无定型状且平均厚度变薄。表皮细胞出现非正常结构和过度膨大的线粒体（De Cock and Degheele, 1991）；环丙氨嗪（IGI cyromazine）处理地中海实蝇 *Ceratitis capitata*（Wiedemann）3 龄幼虫后，出现了表皮层变薄，上表皮与原表皮之间出现空隙，外表皮皱褶且不规则，皮细胞膨大等现象（Vinuela and Budia, 1994）；利用伏虫脲（diflubenzuron）处理大蜡螟 *Galleria mellonella* 5 龄幼虫后，新表皮合成受阻，平均厚度减少 50%

(*Unsal et al.*, 2004)。利用虫酰肼(tebufenozide)处理云杉卷叶蛾 *Choristoneura fumiferana* 6 龄幼虫后，出现高尔基体肥大、新表皮缺少内表皮片层等现象(Retnakaran *et al.*, 1997)；虫酰肼处理棉铃虫 4 龄幼虫，导致其产生早熟、新表皮不完整等现象(杜育哲等，2002a，2002b)。尽管对植物源蜕皮甾酮或非甾醇酰基肼类物质对昆虫体壁的研究较多，但外源 20E 对昆虫体壁的影响未见报道。

舞毒蛾 *Lymantria dispar* (Linnaeus)属毒蛾科(Lymantriidae)毒蛾属 *Lymantria*，起源于欧亚大陆，是一种世界性农林害虫，目前主要分布于亚洲的日本、中国和朝鲜，以及欧洲和北美洲等。舞毒蛾同时也是世界上最严重的食叶性森林害虫之一。其食性杂，主要危害多种针、阔叶树，取食树木芽苞、叶片，造成连年大面积危害，严重危害森林健康。本研究以舞毒蛾 5 龄幼虫为研究对象，采用透射电镜技术研究了 20E 对舞毒蛾 5 龄幼虫蜕皮的影响，以及蜕皮过程中体壁超微结构的变化。

1 材料与方法

1.1 试虫和试剂

舞毒蛾卵块于 2011 年 3 月下旬采自于东北林业大学实验林场，4℃冰箱保存。5 月下旬取出卵块，置于室内任其孵化。孵化后的幼虫置于光照培养箱内，用无污染新鲜白桦叶片饲养，每天更换新鲜叶片，及时清理排泄物和食物残渣。饲养条件为：温度 25 ± 1℃，相对湿度 60% ~ 80%，光周期 16L: 8D。

20E 采用陕西森弗生物技术有限公司的露水草提取物，为含 90% 20E 的粉末。先用一定量无水乙醇溶解 20E，然后用蒸馏水稀释至 20 μg/μL，4℃冰箱保存备用。

1.2 试虫处理

选取蜕裂线已经开裂，旧头壳开始脱离头部的 4 龄舞毒蛾幼虫，单独放置于培养皿中，置于光照培养箱中过夜。第 2 天挑出刚蜕皮完成，且蜕皮时间相差不到 1 h 的 5 龄舞毒蛾幼虫作为实验材料。将新鲜白桦叶片浸入 20 μg/μL 20E 溶液 10 s，平均每片幼嫩白桦叶片蘸有 200 μL 左右的溶液，阴干；用蘸有充足水分的脱脂棉裹住叶柄，放入透气性良好的透明养虫瓶中，饲喂供试幼虫。用蘸有 20E 溶液的树叶饲喂 12 h 后，换未处理的白桦叶片饲喂。相同浓度的乙醇溶液处理新鲜白桦叶片作为对照组。对照组和 20E 处理组各饲喂 100 头 5 龄舞毒蛾幼虫。饲养条件为 25 ± 1℃，相对湿度 70%，光周期 14L: 10D。

各药剂处理组和对照组分别于处理 6，12，24，36，48，72 和 96 h 时平行取样。每次取 5 头幼虫注入 2.5% 的戊二醛(0.1 mol/L 的磷酸缓冲液，pH 7.0，蔗糖 0.15 mol/L)，迅速解剖虫体，取出背部 6 ~ 7 对毛瘤之间体壁放入戊二醛中 4℃固定备用。

另配制 0.5 μg/μL 20E 溶液，用同样的蘸药方法处理幼嫩白桦叶片后，饲喂 100 头舞毒蛾 5 龄幼虫 12 h，然后换成正常白桦叶片继续饲喂，观察低浓度 20E 对舞毒蛾 5 龄幼虫的影响。饲养条件同上。

1.3 试虫外部形态观察

分别用蘸有浓度为 20 μg/μL 和 0.5 μg/μL 20E 溶液的白桦叶片饲喂刚完成蜕皮的 5 龄舞毒蛾幼虫。饲喂 12 h 后，更换未经处理的叶片继续饲喂。同时用蘸有相同浓度乙醇溶液的新鲜白桦叶片饲喂幼虫作为对照(其他饲养条件同 1.2)。在处理后 12 h 内连续观察幼虫的取食和蜕皮状况。每 12 h 更换一次新鲜叶片。第一次更换叶片时测量被取食的叶片面积，并根据每片叶片蘸上的药液的 μL 数、药液浓度和被取食的部分占总叶片面积的比例，计算每头幼虫取食 20E 的量。在处理后的 12 h，24 h，36 h，48 h，72 h 和 96 h 时，结合更换新鲜叶片，观察每头试虫的活动灵敏性、取食情况、形态变化，并取出死亡幼虫，记录。幼虫化蛹后继续留在养虫瓶中，直至羽化为成虫后观察其形态的变化。

1.4 幼虫体壁透射电镜样品制备和观察

分别取出各固定样品，在 0.2 mol/L 磷酸缓冲液中漂洗 3 次，再用 1% 锇酸(0.2 mol/L，pH 7.2 磷酸缓冲液配制)4℃下固定 3 h。用 30%，50%，70%，80%，90%，95% 的乙醇逐级脱水 1 次，100% 乙醇脱水 3 次，每次 10 ~ 15 min。Epon812 渗透、包埋，LKB-IV 型超薄切片机切片，醋酸铀、柠檬酸铅双染色，日立 H-7500 透射电镜观察体壁超微结构变化并拍照。

2 结果

2.1 20E 处理后舞毒蛾外部形态变化

用 20 μg/μL 20E 溶液浸过的白桦叶片饲喂舞毒蛾 5 龄幼虫，在处理后的 6 h 内，幼虫断续取食白桦叶片，平均每头幼虫取食 1/20 片蘸有药液的

白桦叶片，既食入约 400 μg 的 20E 后就基本停止取食。处理 6 h 后停止取食，12 h 开始出现旧头壳脱离，露出乳白色新头壳。24 h 旧头壳脱离更加明显，新头壳颜色加深，静止不动。36 h 后虫体逐渐发黑，体壁逐渐暗淡。48 h 旧头壳未能成功脱离，露出的新头壳颜色变为黄褐色。72 h 后旧体壁皱缩，虫体发黑变小，足部失去功能干枯皱折，50%以上的试虫接近死亡。96 h，轻触虫体反应不敏感或没反应，未完成蜕皮(图 1：B)。到此时，经过 6 次取样剩下的 70 头试虫均死亡或即将死亡。

用0.5 μg/μL 20E 溶液浸过的白桦叶片饲喂舞毒蛾 5 龄幼虫 12 h，平均每头试虫取食 1/2 个白桦叶片，即食入了约 50 μg 20E。处理后 12 h 后出现取食量下降状况，处理后 48 h 幼虫开始死亡，到 96 h 时 94 头幼虫死亡，6 头化蛹。正常舞毒蛾6 龄幼虫才是末龄，5 龄幼虫期也不止 96 h。在 5 龄幼虫的第 4 天化蛹属于提前化蛹，所形成的蛹个体偏小。只有 2 头蛹羽化为成虫，成虫畸形(图 1：D)。

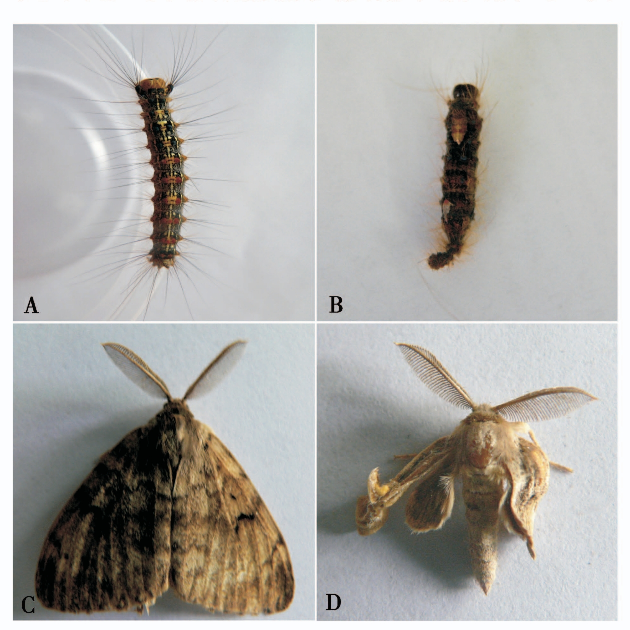


图 1　20E 处理后舞毒蛾外部形态的变化

Fig. 1　Change in the external morphology of *Lymantria dispar* treated by 20-hydroxyecdysone

A：对照组正常 5 龄幼虫 Normal 5th instar larva in the control group；B：20E 处理的幼虫不正常蜕皮，头壳脱离，虫体发黑缩小 Larva treated with 20E molted abnormally, head capsule broken away and body of treated one became nigrescence and shrinking；C：正常的成虫 Normal adult；D：低浓度 20E 处理，极少数幼虫发育到成虫，成虫畸形，虫体小 Treated by low concentration of 20E, very few larvae developed into adults, and the treated imago usually became deformed and body size of the treated one was smaller than that of the untreated one.

对照组 6 – 96 h 虫体活跃，正常取食，头壳颜色由浅黄色逐渐变为黄褐色，背部毒瘤颜色较浅，随着生长，背部前 5 行毒瘤由浅蓝色逐渐变为深蓝色，后 6 行毒瘤由浅红色变为深红色。虫体仍处于 5 龄并正常生长，未出现蜕皮或者化蛹的现象。

2.2　20E 处理后舞毒蛾 5 龄幼虫体壁结构的透射电镜观察

处理后 6 h，对照组舞毒蛾 5 龄幼虫皮细胞细胞器活跃，可见皮细胞顶膜形成大量有致密斑块的微绒毛，微绒毛顶端显示新形成的内表皮片层，皮细胞顶膜附近有大量分泌小泡，内含物丰富，为表皮合成提供原料(图版 Ⅰ：1)。孔道由皮细胞顶膜突起延伸至外表皮，营养物质经其向外传输，为上表皮和外表皮的形成提供原料。表皮层由致密的上表皮，外表皮和20 层左右的内表皮组成，表皮厚度约为 10 μm 左右 (图版 Ⅰ：2)。12 h 时微绒毛致密伸长，皮细胞区域电子致密泡增多(图版 Ⅰ：3)，显示出活跃的滑面内质网、粗面内质网、长椭圆形线粒体和细胞核等细胞器(图版 Ⅰ：4)，内表皮片层继续沉积至 28 层左右，表皮厚度约为 15 μm(图版 Ⅰ：5)。24 h 时内表皮合成至 45 层左右，微绒毛致密(图版 Ⅰ：6)。36 – 96 h 皮细胞内细胞器活跃，内含物丰富，电子密度高，细胞界限明显。期间微绒毛密度一直很高，分泌活动旺盛 (图版 Ⅰ：7，8，9，10)。24 – 96 h 对照组幼虫内表皮层数不断增加达至 50 层左右，24 h 时，内表皮层已经合成至45 层左右(图版 Ⅰ：6)，表皮厚度约为 20 μm。此后内表皮层数增加缓慢至 96 h 时增至 50 层左右 (图版 Ⅰ：11)，表皮厚度约为 24 μm。期间，皮细胞没有与表皮层分离，微绒毛一直保持发达致密状态。

处理后 6 h 时，处理组与对照组舞毒蛾 5 龄幼虫体壁看不出明显区别，细胞内内含物丰富，有典型的细胞器如粗面内质网等，细胞界限明显(图版 Ⅱ：1)。处理组与对照组幼虫都有明显的致密上表皮、外表皮和 20 层左右的内表皮，表皮厚度约为 10 μm，皮细胞顶膜形成大量微绒毛 (图版 Ⅱ：2)。处理 12 h 时处理组幼虫表皮细胞微绒毛数量减少，皮细胞顶膜趋于平滑，皮细胞与表皮之间出现蜕皮间隙，胞质区域出现大量囊泡，含有丰富的内含物，未出现对照组所示的电子致密泡(图版 Ⅱ：3)。处理 24 h 时旧表皮与皮细胞分离，蜕皮间隙增大 (图版 Ⅱ：4，6)，皮细胞顶膜形成大量突起，分泌活动旺盛。皮细胞内滑面内质网等细胞器活跃，电

子密度高（图版Ⅱ：5），蜕皮颗粒游离于蜕皮间隙，形成新的表皮质层(图版Ⅱ：6)。处理36 h 时，皮细胞顶膜形成较短的微绒毛，向外分泌表皮合成原料，孔道延伸至外表皮，细胞内开始出现数量较多的电子疏松泡(图版Ⅱ：7)，新表皮初步形成，由上表皮、外表皮及 8 层左右内表皮组成，表皮厚度约为 4 μm（图版Ⅱ：7，8）。处理 48 h 时，皮细胞内仍可见高尔基体、滑面内质网等细胞器，电子疏松泡增多，细胞间界限明显(图版Ⅱ：9)，皮细胞不断向内表皮输送原料，顶膜与新内表皮界限模糊(图版Ⅱ：10)，新合成的内表皮继续增至 16 层左右(图版Ⅱ：11)。处理 72 h 时，皮细胞内可见少数圆形线粒体，膜状细胞器结构减少(图版Ⅱ：12)，内表皮合成至 20 层左右，细胞内出现大面积电子疏松泡(图版Ⅱ：13)。处理 96 h 时，皮细胞与对照组相比，细胞器结构极少，核膜间隙变大，核仁周围出现小部分空白区域，胞质区域内含物少，出现大面积低密度电子区域(图版Ⅱ：14)，内表皮层数仍旧保持 20 层左右，表皮厚度约为 6.5 μm(图版Ⅱ：15)。

3 讨论

本研究利用透射电镜技术研究了 20E 处理舞毒蛾 5 龄幼虫后体壁超微结构的变化，结果表明：宏观上，20E 处理能够导致新蜕皮舞毒蛾幼虫发生提前的致死性蜕皮。处理 6 h 后，幼虫停止取食，随后出现头壳脱离，活动减少等现象。最终虫体仍保持新旧两层表皮，发黑死亡；微观上，处理后引发出现一系列蜕皮相关生理行为，但内表皮未达到正常层数试虫旧表皮未脱离即死亡。处理组处理后 36 - 96 h 的 60 h 内，新内表皮由 8 层左右增加至 20 层，而对照组在处理后 6 - 24 h 的 18 h 内表皮由 20 层迅速增加至 45 层左右，表明 20E 处理可能直接或间接导致了新内表皮合成速度减慢。

出现 20E 处理后新内表皮合成速度减慢的一种主要原因是由于蜕皮反应的启动，致使细胞内和血淋巴内营养物质大量消耗，而处理 6 h 后舞毒蛾幼虫停止取食，营养物质供给严重不足。这与 Rharrabe 等(2008)研究的利用印楝素处理印度谷螟出现的现象类似。处理后昆虫出现拒食、停止取食等行为，外源营养物质摄入不足，而同时体内发生一系列代谢、降解、合成、消耗等一些类生理行为，导致了营养物质大量消耗，从而出现了细泡内营养物质含量降低的状况。另外一个原因可能是外源 20E 对舞毒蛾具有一定的细胞毒性，致使皮细胞出现了皮细胞内细胞器减少，出现大面积低密度电子区域，核仁周围出现空白区域，微绒毛减少，细胞质呈恶化降解状态等现象。这些现象的出现也必将影响新表皮的合成速度。这些现象与一些学者对其他植物源蜕皮激素类似物或其他植物次生代谢物处理某些昆虫所产生的结果一致。Rharrabe 等(2009)的研究表明，20E 对印度谷螟 *Plodia interpunctella* 的中肠细胞有一定的细胞学毒性。20E 能够导致其中肠上皮细胞微绒毛、质膜断裂，细胞空泡化，细胞器降解，细胞核固缩等现象。其他植物次生代谢产物也对某些昆虫产生类似反应，如苦皮藤素Ⅴ处理东方粘虫 *Mythimna separata* 后中肠细胞的变化(Qi *et al.*, 2011)、印楝素和20E 处理红蠼螋 *Labidura riparia* 后引发咽侧体的变化(Sayah, 2002)。

20-羟基蜕皮酮处理的舞毒蛾幼虫出现的旧表皮无法脱离的现象可能是由于舞毒蛾幼虫食入高剂量 20-羟基蜕皮酮，导致血淋巴中 20-羟基蜕皮酮含量持续保持较高水平，致使 EMH 无法正常释放，不能引发或者延迟蜕皮过程的发生，有研究表明外源蜕皮甾类可以导致蜕皮过程的延迟，这种延迟效应依赖于注射蜕皮甾类的剂量(Truman *et al.*, 1983)。昆虫蜕皮过程受到蜕皮激素等多种激素的严格调控，各个环节的精确性保证了蜕皮过程的顺利进行。

植物源蜕皮激素等植物次生代谢产物作为新一代杀虫剂，有着无毒、无污染、无残留和专一性强等诸多优点，随着研究的进一步深入此类杀虫剂一定会有更广阔的发展空间。

参考文献(References)

Adler JH, Grebenok RJ, 1999. Occurrence, biosynthesis, and putative role of ecdysteroids in plants. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 34(4): 253 - 264.

Camps F, Coll J, 1993. Insect allelochemicals from *Ajuga* plants. *Phytochemistry*, 32(6): 1361 - 1370.

De Cock A, Degheele D, 1991. Effects of buprofezin on the ultrastructure of the third instar cuticle of the insect *Trialeurodes vaporariorum*. *Tissue & Cell*, 23(5): 755 - 762.

Du YZ, Guo SY, Wang XL, Liu AX, Wang QM, Huang RQ, 2002a. Moulting process and effects induced by RH-5992 on *Helicoverpa armigera*. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 35(3): 102 - 106. [杜育哲，郭世宜，王秀玲，刘安西，汪清民，黄润秋，2002a. 棉铃虫幼虫蜕皮过程及 RH-5992 对其蜕皮的

影响. 南开大学学报, 35(3): 102 – 106]

Du YZ, Guo SY, Wang XL, Liu AX, Wang QM, Huang RQ, 2002b. The effects of a new type of nonsteroidal ecdysteroid agonist on cuticle formation in larvae of the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*). *Acta Entomologica Sinica*, 45(6): 748 – 752. [杜育哲, 郭世宜, 王秀玲, 刘安西, 汪清民, 黄润秋, 2002b. 新型非甾醇蜕皮激素类杀虫剂对棉铃虫幼虫蜕皮的影响. 昆虫学报, 45(6): 748 – 752]

Guo EE, Li S, Cao Y, 2008. The hormonal regulation network of insect molting. *Science of Sericulture*, 34(2): 370 – 374. [郭恩恩, 李胜, 曹阳, 2008. 昆虫蜕皮的激素调控网络. 蚕业科学, 34(2): 370 – 374]

Hassan AEM, Charnley AK, 1987. The effect of Dimilin on the ultrastructure of the integument of *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, 33(9): 669 – 676.

Lafont R, 1997. Ecdysteroids and related molecules in animals and plants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35(1 – 2): 3 – 20.

Li K, Li S, Cao Y, 2011. Transcriptional regulation by 20-hydroxyecydsone and its nuclear receptor EcR-USP. *Acta Entomologica Sinica*, 54(8): 933 – 937. [李康, 李胜, 曹阳, 2011. 蜕皮激素与其受体 EcR-USP 的转录调控机制. 昆虫学报, 54(8): 933 – 937]

Liu YJ, Xu PJ, Li YW, Shu HR, Huang DW, 2007. Progress in ecdysone receptor (EcR) and insecticidal mechanisms of ecdysteroids. *Acta Entomologica Sinica*, 50(1): 67 – 73. [刘永杰, 徐蓬军, 李艳伟, 束怀瑞, 黄大卫, 2007. 昆虫蜕皮激素受体及其类似物的杀虫机制研究进展. 昆虫学报, 50(1): 67 – 73]

Qi ZJ, Shi BJ, Hu ZN, Zhang YX, Wu WJ, 2011. Ultrastructural effects of Celangulin V on midgut cells of the oriental armyworm, *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(3): 493 – 444.

Retnakaran A, Macdonald A, Tomkins WL, Davis CN, Brownwright AJ, Palli SR, 1997. Ultrastructural effects of a non-steroidal ecdysone agonist, RH-5992, on the sixth instar larva of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Journal of Insect Physiology*, 43(1): 55 – 68.

Rharrabe K, Amri H, Bouayad N, Sayah F, 2008. Effect of azadirachtin on post-embryonic development, energy reserve and α-amylase activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*, 44(3): 290 – 294.

Rharrabe K, Bouayad N, Sayah F, 2009. Effects of ingested 20-hydroxyecdysone on development and midgut epithelial cells of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93(3): 112 – 119.

Sayah F, 2002. Ultrastructural changes in the corpus allatum after azadirachtin and 20-hydroxyecdysone treatment in adult females of *Labidura riparia* (Dermaptera). *Tissue & Cell*, 34(2): 53 – 62.

Sláma K, Lafont R, 1995. Insect hormones-ecdysteroids: their presence and action in vertebrates. *European Journal of Entomology*, 92: 355 – 377.

Tanaka Y, Takeda S, 1993. Ecdysone and 20-hydroxyecdysone supplements to the diet affect larval development in the silkworm, *Bombyx mori* differently. *Journal of Insect Physiology*, 39(10): 805 – 809.

Truman JW, Rountree DB, Reiss SE, Schwartz LM, 1983. Ecdysteroids regulate the release and action of eclosion hormone in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.). *Journal of Insect Physiology*, 29(12): 895 – 900.

Unsal S, Ozparlak H, Aktumsek A, 2004. Effects of diflubenzuron on the integument of fifth instar *Galleria mellonella* larvae. *Phytoparasitica*, 32(1): 43 – 51.

Vinuela E, Budia F, 1994. Ultrastructure of *Ceratitis capitata* Wiedemann larval integument and changes induced by the IGI cyromazine. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 48(3): 191 – 201.

Xu D, Ali S, Huang Z, 2011. Insecticidal activity influence of 20-hydroxyecdysone on the pathogenicity of *Isaria fumosorosea* against *Plutella xylostella*. *Biological Control*, 56(3): 239 – 244.

Xu K, Tang M, Shen LH, Xu WH, 2001. Advances of physiology and biochemistry in insect molting behavior. *Acta Entomologica Sinica*, 44(2): 244 – 251. [许可, 唐明, 沈璐辉, 徐卫华, 2001. 昆虫蜕皮行为的生理生化和分子生物学研究进展. 昆虫学报, 44(2): 244 – 251]

(责任编辑: 赵利辉)

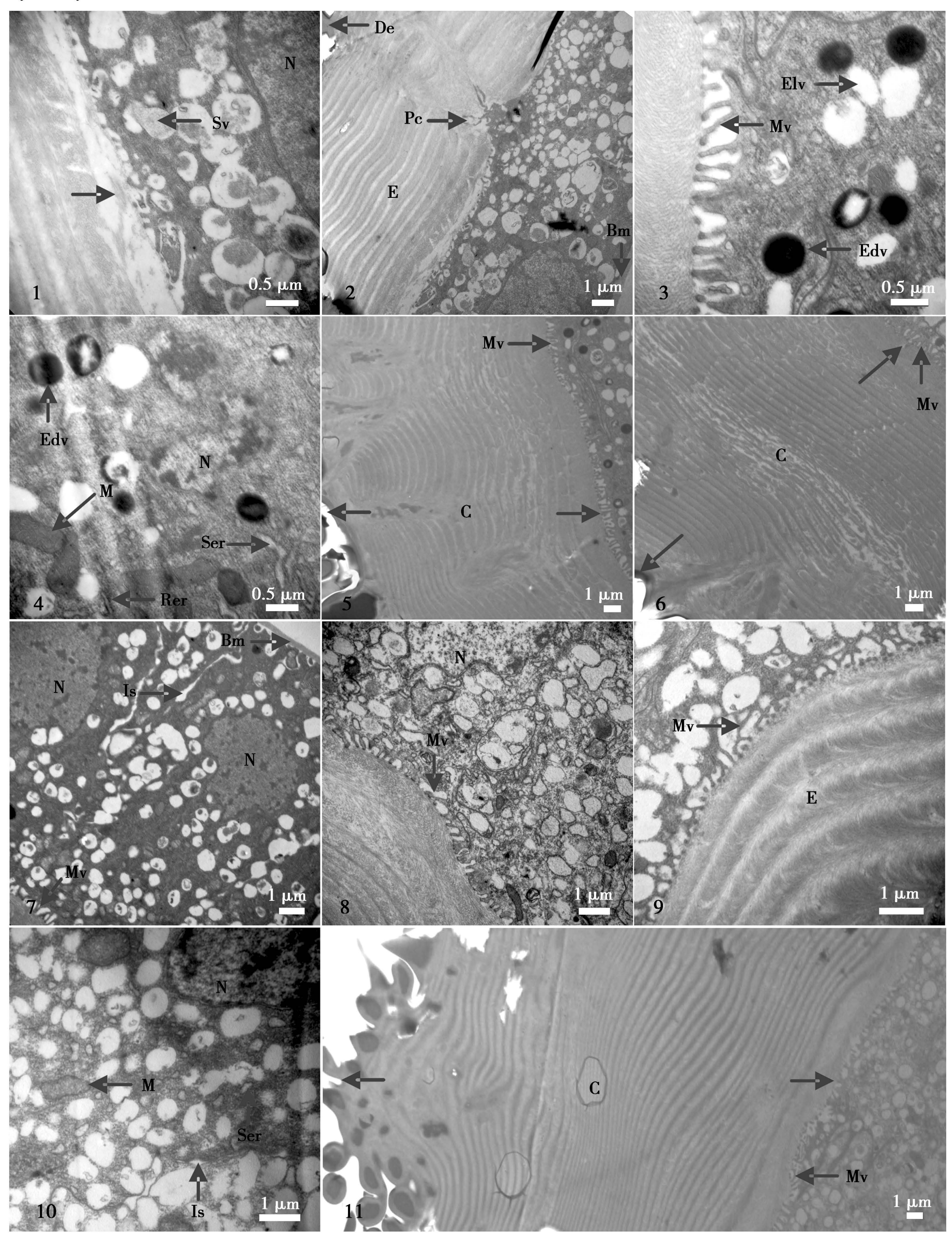
图版说明 Explanations of Plates

图版Ⅰ PlateⅠ. 1：对照组 6 h，示舞毒蛾 5 龄幼虫皮细胞内细胞核，分泌小泡，及新形成的内表皮片层（箭头所示）Control group at 6 h after treatment, showing the nucleus, secretory vesicle, and newly formed endocuticular lamellae (indicated by arrow) in integument of 5th instar larva of *Lymantria dispar*; 2：对照组 6 h，示表皮与皮细胞超微结构：上表皮、内表皮、基膜、孔道 Control group at 6 h after treatment, showing the ultrastructure of cuticle and chrotoplast: epicuticle, endocuticle, basement membrane and pore canal; 3：对照组 12 h，示皮细胞发达的微绒毛、电子致密泡、电子疏松泡 Control group at 12 h after treatment, showing the well developed microvilli of epidermal cells, electron dense vesicle and electron lucent vesicle; 4：对照组 12 h，示皮细胞电子致密泡、线粒体、粗面内质网、滑面内质网、细胞核 Control group at 12 h after treatment, showing the electron dense vesicle of epidermal cells, mitochondria, rough endoplasmic reticulum, smooth endoplasmic reticulum and nucleus; 5：对照组 12 h，示表皮层、微绒毛 Control group at 12 h after treatment, showing the cuticle and microvilli; 6：对照组 24 h，示微绒毛及具有 45 层左右内表皮片层组成的内表皮层 Control group at 24 h after treatment, showing the microvilli and cuticle in which endocuticle was composed of about 45 layers endocuticular lamellae; 7：对照组 36 h，示皮细胞细胞间隙、基膜、细胞核、微绒毛 Control group at 36 after treatment, showing the intercellular space between epidermal cells, basement membrane, nucleus and microvilli; 8：对照组 48 h，示细胞核、微绒毛 Control group at 48 h after treatment, showing the nucleus and microvilli; 9：对照组 72 h，示发达的内表皮及微绒毛 Control group at 72 h after treatment, showing the well developed endocuticle and microvilli; 10：对照组 96 h，示皮细胞内细胞核、线粒体、滑面内质网、细胞间隙 Control group at 96 h after treatment, showing the nucleus, mitochondria, smooth endoplasmic reticulum and intercellular space between epidermal cells; 11：对照组 96 h，示表皮层及微绒毛 Control group at 96 h after treatment, showing the cuticle and microvilli. Bm：基膜 Basement membrane; C：表皮层 Cuticle; De：致密上表皮 Dense epicuticle; E：内表皮层 Endocuticle; Edv：电子致密泡 Electron dense vesicle; Elv：电子疏松泡 Electron lucent vesicle; Is：细胞间隙 Intercellular space; M：线粒体 Mitochondria; Mv：微绒毛 Microvilli; N：细胞核 Nucleus; Pc：孔道 Pore canal; Rer：粗面内质网 Rough endoplasmic reticulum; Ser：滑面内质网 Smooth endoplasmic reticulum; Sv：分泌小泡 Secretory vesicle.

图版Ⅱ PlateⅡ. 1：处理组 6 h，示舞毒蛾 5 龄幼虫皮细胞内粗面内质网，有被小泡、细胞核、细胞间隙，细胞质区域内含物丰富，电子密度高 Treatment group at 6 h after treatment, showing rough endoplasmic reticulum, coated vesicle, nucleus and intercellular space between epidermal cells of 5th instar larva of *L. dispar*, and in the treated larvae, the inclusions were richer in their cytoplasm area and electron density was higher; 2：处理组 6 h，示上表皮、内表皮、微绒毛、孔道 Treated group at 6 h after treatment, showing the epicuticle, endocuticle, microvilli and pore canal; 3：处理组 12 h，示少量微绒毛，皮细胞顶膜趋于平滑，出现蜕皮间隙 Treatment group at 12 h after treatment, showing few microvilli; apical plasma membrane verged to be smooth and ecdysial space was formed; 4：处理组 24 h，示旧表皮与皮细胞分离，形成蜕皮间隙 Treat group at 24 h after treatment, showing that the old cuticle and epidermal cell was separated and ecdysial space was formed between the old cuticle and epidermal cells; 5：处理组 24 h，示皮细胞内活跃细胞器：滑面内质网、线粒体、细胞核；细胞内含物丰富，电子密度高，分泌活动旺盛；细胞顶膜向蜕皮间隙形成大量突起（箭头所示）Treatment group at 24 h after treatment, showing the active organelle in epidermal cells: smooth endoplasmic reticulum, mitochondria and nucleus; in the epidermal cells the inclusions were richer, electron density was higher; their secretion activity of epidermal cell was vigorous, apical membrane of the epithelial cells formed mass protuberance towards ecdysial space (indicated by arrow); 6：对照组 24 h，示旧表皮、蜕皮间隙、蜕皮颗粒、新形成的表皮质层 Treatment group at 24 h after treatment, showing the old cuticle, ecdysial space, ecdysial droplet and new formed cuticulin; 7：对照组 36 h，示表皮层的上表皮、内表皮层、微绒毛、孔道；孔道延伸至外表皮输送表皮合成原料，皮细胞内开始出现较大的电子疏松泡 Treatment group at 36 h after treatment, showing the epicuticle, endocuticle, microvilli and pore canal of cuticle; pore canal extended to exocuticle and transported raw materials to composing cuticle; in the epidermal cell the bigger electron lucent vesicle started to appear. 8：对照组 36 h：示旧表皮与新表皮 Treatment group at 36 h after treatment, showing the old cuticle and new cuticle; 9：处理组 48 h，示皮细胞内高尔基体、电子疏松泡、滑面内质网、细胞核、细胞间隙 Treatment group at 48 h after treatment, showing the Golgi complex, electron lucent vesicle, smooth endoplasmic reticulum, nucleus and intercellular space between epidermal cells; 10：处理组 48 h，皮细胞与内表皮界限模糊（箭头所示）Treatment group at 48 h after treatment, showing that the bounds between epidermal cells became obscured (arrow indicated); 11：处理组 48 h，示皮细胞与表皮层 Treatment group at 48 h after treatment, showing the epidermal cells and cuticle; 12：处理组 72 h，示皮细胞内细胞核和圆形线粒体，其他细胞器极少 Treatment group at 72 h after treatment, showing the nucleus and circular mitochondria in epidermal cells; the other organelles were very few; 13：对照组 72 h，示表皮层与皮细胞，皮细胞内电子密度较低 Treatment group at 72 h after treatment, showing the cuticle and epidermal cells; electron density in epidermal cells was lower; 14：处理组 96 h，示皮细胞结构：细胞核、核仁、凝聚的染色质，核仁周围出现小部分空白区域，细胞器结构少，胞质区域呈恶化，降解状态 Treatment group at 96 h after treatment, showing the structure of epidermal cells: nucleus, nucleolus and agglomerative chromatin; a small percentage of blank space occurred around nucleolus; the number of organelle was less; cytoplasm area appeared deteriorative and degradative state; 15：处理组 96 h，示表皮层与皮细胞 Treatment group at 96 h after treatment, showing the cuticle and epidermal cells. C：表皮层 Cuticle; Ch：染色质 Chromatin; Cu：表皮质层 Cuticulin; Cv：有被小泡 Coated vesicle; De：致密上表皮 Dense epicuticle; E：内表皮层 Endocuticle; Ed：蜕皮颗粒 Ecdysial droplet; Elv：电子疏松泡 Electron lucent vesicle; Es：蜕皮间隙 Ecdysial space; G：高尔基体 Golgi complex; Is：细胞间隙 Intercellular space; M：线粒体 Mitochondria; Mv：微绒毛 Microvilli; N：细胞核 Nucleus; nC：新表皮 New cuticle; Nu：核仁 Nucleolus; oC：旧表皮 Old cuticle; Pc：孔道 Pore canal; Rer：粗面内质网 Rough endoplasmic reticulum.

于杰等：20-羟基蜕皮甾酮处理后舞毒蛾外部形态和幼虫体壁超微结构的变化 图版Ⅰ

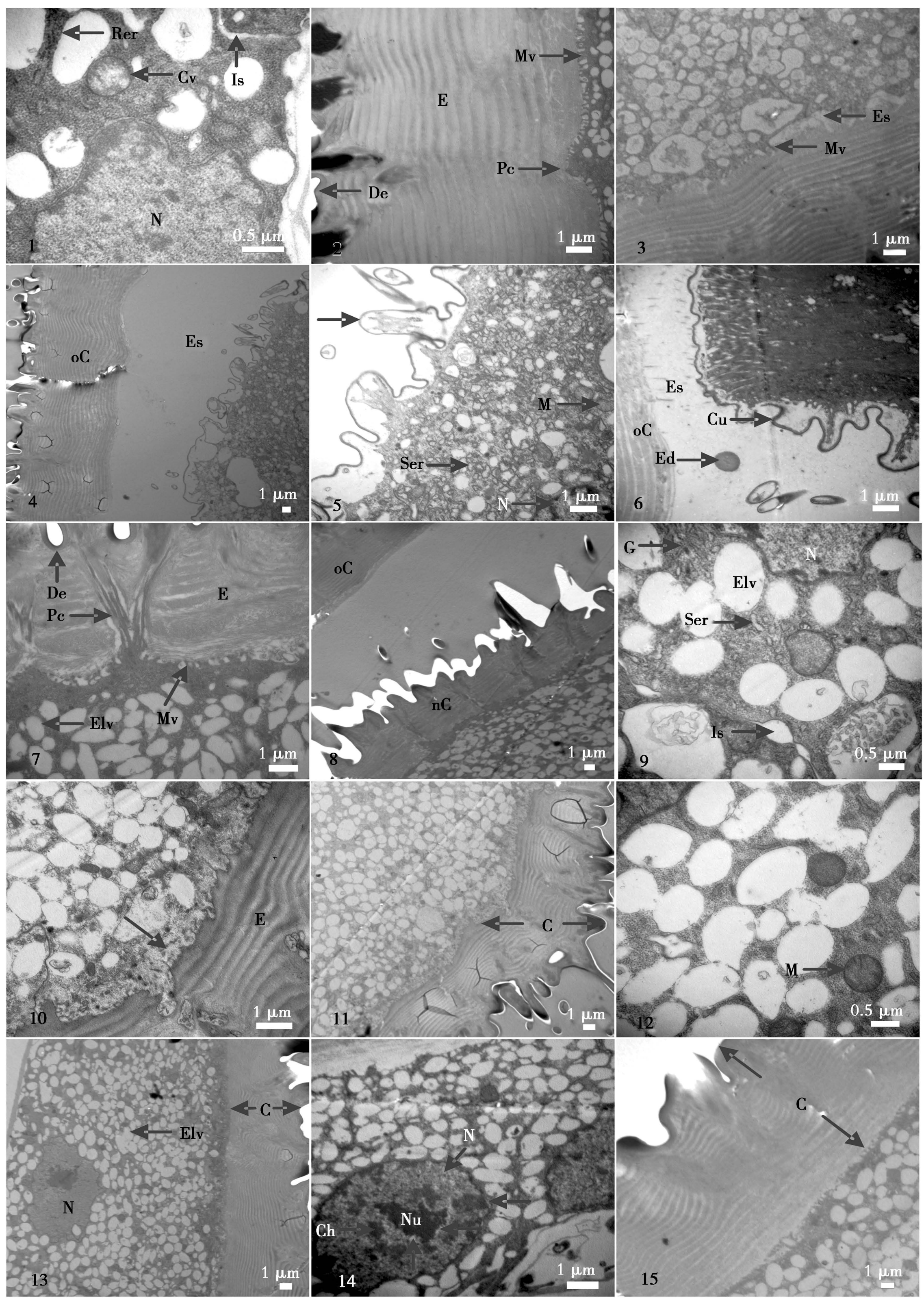
Yu *et al*.: Changes in external morphology and integument ultrastructure of the 5th instar larvae of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantridae) treated by 20-hydroxyecdysone Plate Ⅰ



图版说明见文后 Explanations at the end of text.

于杰等：20-羟基蜕皮甾酮处理后舞毒蛾外部形态和幼虫体壁超微结构的变化 图版Ⅱ

Yu *et al*.: Changes in external morphology and integument ultrastructure of the 5th instar larvae of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantridae) treated by 20-hydroxyecdysone Plate Ⅱ



图版说明见文后 Explanations at the end of text.